Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 1, Spring 2024, p. 117-131

The Effect of Trichoderma Fungus on the Morphophysiological Traits of the Basil Medicinal Plant (*Ocimum basilicum* L.) under Water Stress Conditions

M. Amani[1], S. Alizadeh-Salteh[2]*, M. Sabzi-Nojadeh[3], M. Younessi Hamzekhanlu[3]

1- Ph.D. Student of Physiology of Production and Post-harvest of Horticultural Plants, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2- Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
(*- Corresponding Author Email: s.a.salte@gmail.com)
3- Assistant Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Received: 26-01-2023
Revised: 21-05-2023
Accepted: 05-07-2023
Available Online: 09-07-2023

How to cite this article:
Amani, M., Alizadeh-Salteh, S., Sabzi-Nojadeh, M., & Younessi Hamzekhanlu, M. (2024). The effect of Trichoderma fungus on the morphophysiological traits of the basil medicinal plant (*Ocimum basilicum* L.) under water stress conditions. *Journal of Horticultural Science, 38*(1), 117-131. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.80813.1231

Introduction

Medicinal plants have long had a special place in the traditional agricultural system of Iran and the use of these plants as medicine to prevent and treat diseases has been considered by traditional medicine experts since ancient times. Medicinal plants with rich sources of secondary metabolites provide the basic active ingredients of many medicines. Although the biosynthesis of secondary metabolites is genetically controlled, but their construction is strongly influenced by environmental factors. One of the important climatic factors that affect the distribution of plants around the world and can cause morphological, physiological and biochemical changes in the plant is the lack of available water. Basil (*Ocimum basilicum* L.) seems to show little resistance to water stress. For this reason, there is a need for protective mechanisms for the basil plant against stress due to water shortage. Plants are able to reduce or eliminate the effects of water shortage stress by coexisting with a number of soil microorganisms. Coexistence relationship plant with *T. harzianum* fungi is one of the ways to reduce dehydration in plants. These mushrooms by altering some of the root properties and absorbing nutrients in the host plants, they reduce the destructive effects of water shortage stress. Observing the positive effect of these fungi in increasing the absorption of nutrients from the soil, improving plant water relations, increasing water use efficiency in plants and finally increasing plant resistance to water deficit stresses on the one hand and on the other hand. The existence of water crises in different countries has prompted researchers to further study this aspect of the symbiotic relationship between the host plant and *Trichoderma harzianum*.

Materials and Methods

Present study was performed to investigate the effect of *T. harzianum* on the antioxidant content of *Ocimum basilicum* under water deficit stress. It is also intended to evaluate the effects of an endophytic fungi namely *T. harzianum* on the shoot yield, photosynthetic pigments, content and yield of essential oil from *O. basilicum* under water deficit stress. All experiments were performed as the factorial based on completely randomized design blocks with three replications in greenhouse condition. The experimental factors were the different irrigation regimes including 100, 75, 50 and 25% of field capacity and two concentrations of the *T. harzianum* (10^6 and 10^9

https://doi.org/10.22067/jhs.2023.80813.1231

CFU/ml). At the beginning of flowering, water deficit stress was applied at four levels of 25, 50, 75 and the control treatment (100 percent) of field capacity until three weeks later. The application of water stress was such that the pots were weighed daily and the moisture deficiency in each treatment was removed by watering the pots until reaching the desired treatment level. After applying the stress, sampling and measuring traits were done at the full flower stage. After the plants reach the full flowering period, various traits including plant height, number of leaves, fresh and dry weight yield of the plant (as the economic yield of basil) and fresh and dry weight yield of roots per square meter, chlorophyll a, b, total (T), carotenoid, colonization percentage, yield and essential oil content were measured in all the plants in the pots.

Results and Discussion

Increasing the level of water stress reduced the economic performance of basil (*O. basilicum*). Coexistence with Trichoderma reduced the destructive effects of dehydration on the plant. With the application of dehydration stress, the essential oil content increased in mild and moderate stresses, but the yield of essential oil did not differ significantly from the control and plant height, number of leaves and plant pigments decreased under dehydration stress. According to the experimental results, it can be said that Trichoderma with a population density of 106 (spores per ml of inoculum) had a better effect on most growth indices, while the effect Trichoderma with a population density of 109 (spores per milliliter of inoculum) on important traits such as shoot fresh weight yield (212.2 g), percentage (0.7%) and essential oil yield It was higher. According to the obtained results, it can be stated that inoculation of basil with Trichoderma increased the percentage and yield of essential oil in both water stress and non-stress conditions, and considering that in cultivation of plants the goal is to increase the effective substance. It is in these plants.

Conclusion

Finally, the results indicated that the use of Trichoderma mushroom in comparison with the control (without inoculation with the fungus) under water stress conditions has the ability to improve plant growth and leads to an increase in plant efficiency under water stress conditions.

Keywords: Abiotic stress, Aerial part performance, Essential oil, Morphological traits

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۱، بهار ۱٤۰۳، ص. ۱۳۱-۱۱۷

اثر قارچ تریکودرما بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط تنش آبی

مینا امانی[۱]- سعیده علیزاده سالطه[۲]*- محسن سبزی نوجه‌ده[۳]- مهدی یونسی حمزه‌خانلو[۳]
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۴

چکیده
مطالعه حاضر با هدف ارزیابی عملکرد کمی و کیفی گیاه ریحان در شرایط گلخانه‌ای تحت تأثیر تنش کمبود آب به‌همراه مایه‌زنی قارچ تریکودرما بر روی صفات مورفولوژیکی از جمله عملکرد بخش هوایی (عملکرد اقتصادی ریحان)، رنگیزه‌های فتوسنتزی، درصد و عملکرد اسانس این گیاه انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر و مطالعات آزمایشگاهی در آزمایشگاه‌های پایه و عمومی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر در سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ انجام گرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل سطوح مختلف تنش کمبود آب (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و تیمار شاهد یا ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و یک گونه تجاری قارچ تریکودرما (*Trichoderma harzianum* Na-lac.) با تراکم جمعیتی 10^9 و 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح و تیمار شاهد بود. افزایش سطح تنش کم‌آبی باعث کاهش عملکرد اقتصادی گیاه ریحان گردید. با اعمال تنش کم‌آبی محتوای اسانس در تنش‌های ملایم (۰/۷ درصد) و متوسط (۰/۸ درصد) افزایش یافت، ولی عملکرد اسانس تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت و ارتفاع بوته (۰/۲۸ سانتی‌متر)، تعداد برگ و رنگیزه‌های گیاهی تحت تنش کم‌آبی کاهش یافتند. با توجه به نتایج آزمایش می‌توان بیان کرد که قارچ تریکودرما با تراکم جمعیتی 10^6 (اسپور در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح) تأثیر بهتری بر بیشتر شاخص‌های رشد داشت، درحالی‌که تأثیر قارچ تریکودرما با تراکم جمعیتی 10^9 (اسپور در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح) بر روی صفات مهمی مثل عملکرد وزن تر اندام هوایی (۲۱۳/۲ گرم)، درصد (۰/۷ درصد) و عملکرد اسانس بیشتر بود. در نهایت نتایج مشخص کرد که استفاده از قارچ تریکودرما درمقایسه با شاهد (بدون تلقیح با قارچ) در شرایط تنش کم‌آبی قابلیت بهبود رشد گیاه را داشته و منجر به افزایش کارایی گیاه در شرایط تنش کم‌آبی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، تنش غیرزیستی، صفات مورفولوژیکی، عملکرد بخش هوایی

مقدمه
یکی از عوامل مهم اقلیمی که بر توزیع و پراکنش گیاهان در سرتاسر جهان مؤثر بوده و می‌تواند باعث تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه شود، کمبود میزان آب در دسترس است. در واقع کم‌آبی یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که رشد و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Rajaeian *et al*., 2015; Sharma *et al*., 2006). کشور ایران به‌عنوان یک کشور نیمه‌خشک، سالانه خسارات زیادی را از تنش کمبود آب در بخش کشاورزی متحمل می‌شود. اغلب گیاهان عالی در بعضی از مراحل نمو درمعرض درجات مختلفی از تنش آبی قرار می‌گیرند. تحمل به تنش کم‌آبی در گیاهان حاصل فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و فنولوژیکی

۱- دانشجوی دکتری تخصصی تولید و پس از برداشت گیاهان دارویی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲- دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: s.a.salte@gmail.com)
۳- استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
https://doi.org/10.22067/jhs.2023.80813.1231

است که به‌تنهایی و یا در ترکیب باهم، واکنش گیاه را درمقابل تنش کمبود آب تعیین می‌نمایند (Amini *et al*., 2020).

با توجه به تغییرات آب و هوایی جهان که ناشی از گرم شدن زمین است و همچنین موقعیت جغرافیایی کشور که در مناطق گرم و خشک زمین قرار دارد و ذخایر آبی نیز محدود است، می‌توان با استفاده از روش‌هایی که باعث مصرف کم آب می‌شود، باعث افزایش تولید و عملکرد مناسب شد و مقدار آب مصرفی در محصولات کشاورزی را کاهش داد. ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum* L. متعلق به تیره نعناعیان (Lamiaceae) گیاهی علفی، یکساله، معطر، تقریباً بدون کرک و دارای ساقه چهارگوش می‌باشد. ریحان گیاهی روزبلند و حساس به سرما است که به خوبی در خاک‌های مرطوب با زهکشی مناسب رشد می‌کند. به‌نظر می‌رسد ریحان با توجه به نیاز شدید به آب برای رشد، نسبت به تنش کمبود آب مقاومت کمی از خود نشان دهد و به همین دلیل نیاز به سازوکارهای محافظتی برای گیاه ریحان در برابر تنش ناشی از کمبود آب احساس می‌شود (Khakdan & Javanmard, 2022). گیاهان از طریق همزیستی با تعدادی از میکروارگانیسم‌های خاک قادر هستند اثرات تنش کمبود آب را کاهش داده یا برطرف نمایند. قارچ تریکودرما به‌وجود آورنده یکی از همزیستی های مفید در ریشه اکثر گیاهان بوده و نقش کلیدی در چرخه عناصر غذایی و همچنین مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی دارند (Mazhabi *et al*., 2011). این موجودات قادر هستند با اکثر گونه‌های گیاهی رابطه همزیستی تشکیل بدهند و به‌عنوان پل زنده بین گیاه و خاک، هدایت آبی ریشه‌ها را افزایش دهند و از طریق گسترش سیستم ریشه‌ای و بهبود ریزوسفر خاک، جذب مواد معدنی با تحرک کم به‌ویژه فسفر را افزایش دهند. گونه‌های تریکودرما تحمل گیاه به تنش‌های زنده و غیر زنده مانند کمبود آب و شوری را از طریق افزایش رشد ریشه، جذب مواد مغذی و القاء محافظت در برابر آسیب‌های اکسیداتیو افزایش می‌دهند (Ahmad *et al*., 2014). در آزمایشی نشان داده شد که کلونیزاسیون نهال‌های کاکائو (*Theobroma cacao*) توسط تریکودرما منجر به تأخیر در بسیاری از جنبه‌های پاسخ به کم‌آبی شد. در این شرایط، افزایش رشد ریشه و بهبود وضعیت آب گیاه سبب می شود تا گیاهچه‌های کاکائو تنش کمبود آب را بهتر تحمل کنند (Haq *et al*., 2014). همچنین مشاهده شد که قارچ تریکودرما سطح تنش را به‌طور قابل‌توجهی به‌وسیله مسیرهای فیزیولوژیکی مختلف کاهش می‌دهند. نتایج مشابهی نیز برای تحمل به کم‌آبی توسط تریکودرما در گیاه *Oryza sativa* L. گزارش شده است (Shukla *et al*., 2012). اصلانی و همکاران (Aslani *et al*., 2011) با بررسی تأثیر قارچ بر رشد گیاه ریحان تحت شرایط تنش کمبود آب دریافتند که با کاهش میزان رطوبت خاک، ارتفاع بوته، تعداد برگ، وزن خشک ریشه، عملکرد ماده تر و خشک کاهش یافت. به‌علاوه اثر کاربرد قارچ بر پارامترهای رشدی معنی‌دار بود. در تحقیقی تنش کمبود آب باعث کاهش ارتفاع گیاه مرزنجوش (*Origanum majorana*) شد، درصورتی‌که تلقیح با قارچ گیاه مرزنجوش، باعث افزایش ارتفاع گیاه گردید. همچنین تنش کمبود آب باعث افزایش میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل گیاه مرزنجوش شد، درصورتی‌که تلقیح قارچ میکوریز با گیاه، باعث کاهش محتویات کلروفیل a، b و کلروفیل کل گردید و گیاه تلقیح شده با قارچ مقاومت بیشتری به تنش نشان داد (Khalil & El-Noemani, 2015). با مشاهده تأثیر مثبت قارچ‌های همزیست در افزایش جذب عناصرغذایی از خاک، بهبود بخشیدن به روابط آبی گیاه، افزایش راندمان مصرف آب در گیاه و درنهایت بالا بردن مقاومت گیاه به تنش-های کمبود آب از یک طرف و از طرف دیگر وجود بحران آب در کشورهای مختلف، محققین را بر آن داشته تا این جنبه از رابطه همزیستی به‌وجود آمده بین گیاه میزبان و قارچ تریکودرما را بیش از پیش مورد بررسی قرار دهند (Mazhabi *et al*., 2011). لذا با توجه به محدودیت منابع آبی در کشور، به‌نظر می‌رسد بکارگیری قارچ تریکودرما کارایی تولید گیاهان مثل ریحان را در مقابله با تنش کمبود آب بهبود دهد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی عملکرد کمی و کیفی گیاه ریحان در شرایط گلخانه‌ای تحت تأثیر تنش کمبود آب به همراه قارچ تریکودرما بر روی صفات مورفولوژیکی، رنگیزه‌های گیاهی، درصد کلونیزاسیون، درصد و عملکرد اسانس این گیاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر تنش کمبود آب به‌همراه یک گونه تجاری قارچ تریکودرما بر روی صفات مورفولوژیکی، رنگیزه‌های گیاهی، درصد و عملکرد اسانس در گیاه ریحان بنفش رقم محلی استان آذربایجان شرقی، شهرستان اهر که در باغات اهر کشت می‌شوند، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل تنش رطوبتی و قارچ تریکودرما بودند که تنش کمبود آب شامل چهار سطح ۲۵، ۵۰، ۷۵ درصد و تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و گونه تجاری قارچ تریکودرما (*Trichoderma harzianum* Na-lac.) با تراکم جمعیتی $۱۰^۶$ و $۱۰^۹$ اسپور در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح و تیمار شاهد بود.

تکثیر تریکودرما

برای تکثیر قارچ تریکودرما اینوکلوم اولیه قارچ (*T.harzianum*) از گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز تهیه گردید. نمونه تهیه شده قارچ تریکودرما جهت استفاده در محیط آزمایشگاهی به محیط‌کشت استریل جامد سیب‌زمینی دکستروز آگار انتقال داده شد.

پس از یک هفته انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، از آن‌ها جهت تهیه سوسپانسیون قارچی استفاده شد. برای تهیه سوسپانسیون قارچی مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به محیط کشت حاوی میسلیوم‌های قارچی اضافه شده و سپس میسلیوم‌ها با اسکالپل از محیط کشت برداشته و در داخل آب غوطه‌ور شدند تا اسپورها آزاد شوند. در سوسپانسیون حاصل برای جداسازی ریسه‌ها از پشم شیشه استریل استفاده شد (Taekim *et al.*, 2001). حجم مشخصی از این سوسپانسیون بر روی لام هماتوسیتومتر قرار گرفت و شمارش اسپور انجام شد. درنهایت تراکم جمعیت قارچی در این سوسپانسیون 10^6 و 10^9 اسپور در هر میلی‌لیتر تنظیم شد. از زادمایه‌های آماده شده برای هر جدایه قارچی به میزان ۳۰ گرم در هر گلدان استفاده شد (Mohsenzadeh *et al.*, 2016).

نحوه کشت و تلقیح با قارچ و اعمال تنش کم‌آبی

برای کشت از گلدان‌های استریل هفت کیلویی با قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۱/۵ سانتی‌متر استفاده شد. به‌منظور ضدعفونی بذور و جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی قارچی، بذرها به‌مدت دو تا سه دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار داده شد و سپس با آب مقطر شست و شو داده شدند. همچنین برای کشت بذور ریحان، جهت اطمینان از قدرت جوانه‌زنی بذرها تست جوانه‌زنی روی آن‌ها انجام گرفت که درصد جوانه‌زنی ۸۹ درصد بود. به‌منظور کاشت بذرها، ابتدا دوسوم حجم گلدان با خاک پر شد، سپس ۳۰ گرم از مایه تلقیح روی سطح خاک پخش گردید. نهایتاً به اندازه چهار سانتی‌متر خاک روی آن اضافه شده و کشت بذرها انجام شد. در پایان یک سانتی‌متر خاک روی بذرها ریخته شد. اولین آبیاری بلافاصله بعد از کشت انجام پذیرفت. جوانه‌زنی بذرها در محیط گلخانه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بعد از گذشت ۱۰ روز آغاز گردید. در مرحله شروع گلدهی، تنش کمبود آب در چهار سطح ۲۵، ۵۰، ۷۵ و تیمار شاهد (۱۰۰ درصد) ظرفیت مزرعه ای تا سه هفته بعد از آن اعمال شد. اعمال تنش کم‌آبی به این صورت بود که گلدان‌ها به‌صورت روزانه توزین می‌شدند و نقصان رطوبتی در هر تیمار با آبیاری گلدان‌ها تا رسیدن به سطح تیمار موردنظر برطرف می‌شد. پس از اعمال تنش، نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات در مرحله تمام گل صورت پذیرفت (Rahimi *et al.*, 2019).

صفات مورد اندازه‌گیری

پس از رسیدن گیاهان به دوره کامل گلدهی، صفات مختلف شامل ارتفاع بوته، تعداد برگ، عملکرد وزن تر و خشک بوته (به‌عنوان عملکرد اقتصادی ریحان) و عملکرد وزن تر و خشک ریشه در متر مربع، کلروفیل a، b، کل (T)، کاروتنوئید (Porra, 2002)، درصد کلونیزاسیون (Taekim *et al.*, 2001)، عملکرد و محتوای اسانس در تمامی بوته‌های گلدان‌ها اندازه‌گیری شد.

ارتفاع بوته

در انتهای آزمایش و قبل از برداشت گیاهان، ارتفاع هر نمونه در گلدان برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد، به این صورت که ارتفاع هر شاخه از سطح بستر (محل طوقه) تا جوانه‌ی انتهایی با خط‌کش اندازه گیری شد، در هر گلدان که به‌عنوان واحد آزمایشی بود پنج بوته به‌طور تصادفی انتخاب و میانگین پنج داده به‌عنوان ارتفاع نهایی بوته در نظر گرفته شد.

تعداد برگ

برای این صفت، تعداد برگ پنج بوته از هر گلدان شمارش شد و درنهایت میانگین برگ‌های پنج بوته به‌عنوان تعداد برگ آن تیمار ثبت شد.

عملکرد وزن تر و خشک بوته و ریشه در مترمربع

وزن تر و خشک بوته و ریشه در مساحت هر گلدان یعنی ۰/۲۸ مترمربع اندازه‌گیری شد و با استفاده از عدد به‌دست آمده با نسبت‌گیری وزن تر و خشک بوته و ریشه در واحد مترمربع برآورد گردید.

کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید

میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید با استفاده از روش پورا (Porra, 2002) با نمونه‌گیری تصادفی از برگ‌های بالغ و عصاره‌گیری با استون ۸۰ درصد اندازه‌گیری شد. برای این کار ابتدا حدود ۰/۲۵ گرم از نمونه برگی هر گلدان به‌صورت تصادفی جدا شد و در داخل فویل آلومینیومی پیچیده و پس از قرار دادن بر روی یخ، آن‌ها را به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی اهر منتقل شدند. سپس ۰/۲۵ گرم نمونه برگی را در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد تا به‌صورت محلول یکنواختی درآمد. نمونه‌ها به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل و به‌مدت ده دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد میزان جذب نور محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۲ نانومتر قرائت گردید. درنهایت مقدار جذب نمونه‌ها در روابط زیر جاگذاری و مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید محاسبه شد. گزارش نهایی مقادیر برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بیان شده است.

$$\mathrm{Chl_a\ (mg/g)} = [(12.25 \times A_{662}) - (2.55 \times A_{645})] \times [V/W]$$

$$\mathrm{Chl_b\ (mg/g)} = [(20.31 \times A_{645}) - (4.91 \times A_{662})] \times [V/W]$$

$$\mathrm{Chl_t (mg/g)} = \mathrm{Chl_a} + \mathrm{Chl_b}$$

$$\mathrm{Chl(x+c)(mg/g)} = (1000\ \mathrm{A_{470}} - 2.27\ \mathrm{C_a} - 81.4\ \mathrm{C_b})/227$$

Chl_a: کلروفیل a

Chl_b: کلروفیل b

Chl_t: کلروفیل کل

$Chl_{(x+c)}$: کاروتنوئید (گزانتوفیل + کاروتن)

عملکرد و محتوی اسانس

به‌منظور تعیین ویژگی کمی اسانس ریحان، استخراج اسانس از آن در مرحله گلدهی انجام گرفت. استخراج اسانس به‌صورت تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر انجام شد. بدین منظور ۲۵ گرم از اندام هوایی گیاه (که قبلاً در معرض هوای آزاد و سایه کاملاً خشک شده) توزین گردید و با استفاده از آسیاب برقی خرد گردید و در بالن یک لیتری ریخته شد و به حجم یک سوم بالن آب مقطر اضافه شد و در روی هیتر با دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد به نقطه جوش رسید و با استفاده از دستگاه کلونجر نمونه‌ها اسانس‌گیری شدند. مدت اسانس‌گیری سه ساعت در نظر گرفته شد. آب و گیاه خرد شده در بالن شیشه‌ای، جوشیده و بخار حاصل از آن بعد از عبور از فضای سرد مبرد (داخل کلونجر) متراکم شده و ذرات مایع اسانس روی سطح آب تشکیل گردید. چون اسانس ریحان سبک‌تر از آب است در محل جمع‌آوری اسانس که حباب شیشه‌ای بالای لوله مدرج در کلونجر می‌باشد، روی سطح آب جمع شد. پس از سرد شدن (حدود ۳۰ دقیقه) و خواندن حجم اسانس، با باز کردن شیر متصل به لوله مدرج ابتدا آب و سپس اسانس خارج گردید (Amani *et al.*, 2023).

$$\text{درصد اسانس} = \frac{\text{جرم اسانس}}{\text{وزن اندام هوایی}} \times 100$$

لازم به ذکر است که جرم اسانس با استفاده از چگالی اسانس ($۰/۹۳\ g/cm^3$) ریحان و حجم اسانس استخراج شده محاسبه شد. بعد از تعیین درصد اسانس، عملکرد آن نیز از طریق حاصل‌ضرب عملکرد اندام هوایی در درصد اسانس برحسب گرم در متر مربع محاسبه شد.

عملکرد اندام هوایی × درصد اسانس = عملکرد اسانس

اسانس مربوط به هر تیمار در داخل میکروتیوپ‌های دو میلی‌لیتری جمع‌آوری شد. اسانس باید حتی‌الامکان عاری از آب گردد، زیرا آب باعث هیدرولیز استرهای موجود در اسانس و تبدیل آن به اسید و الکل می‌شود. بدین منظور از سولفات‌سدیم خشک استفاده شد.

تعیین کلونیزاسیون تریکودرما

جهت بررسی حالت اندوفیتی قارچ تریکودرما و پیشرفت قارچ در بافت‌های مختلف گیاه، در زیر هود لامینار، قطعاتی از ساقه و ریشه به طول دو تا سه سانتی‌متر برش داده شد. ابتدا ضدعفونی سطحی با الکل ۷۰ درصد به‌مدت یک دقیقه انجام گرفت. سپس دو مرتبه با آب مقطر استریل شست‌وشو گردید. پس از خشک شدن روی کاغذ صافی استریل، روی محیط کشت PDA کشت داده شد (Mohsenzadeh *et al.*, 2016).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در ابتدا آزمون نرمال بودن باقی‌مانده‌ها و یکنواختی واریانس‌های درون تیماری انجام شده و مورد تأیید قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین توسط آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS (Ver. 9.3) و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل (Excel) استفاده شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات مربوط به قارچ تریکودرما، رطوبت خاک و برهمکنش آن‌ها

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثرات اصلی تراکم جمعیت‌های مختلف تریکودرما بر صفات ارتفاع بوته، محتوای اسانس، کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. همچنین اثرات اصلی سطوح مختلف رطوبت خاک بر ارتفاع بوته، درصد و عملکرد اسانس، کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اثرات متقابل تراکم جمعیت‌های مختلف تریکودرما در سطوح مختلف رطوبت خاک بر کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. نتایج به‌دست آمده حاکی از غیرمعنی‌دار شدن اثرات اصلی و اثر متقابل عوامل مورد بررسی در مورد درصد کلونیزاسیون، صفات مرتبط با ریشه و تعداد برگ بود.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تراکم جمعیت قارچ تریکودرما و رطوبت خاک بر برخی صفات گیاه ریحان

Table 1- ANOVA for the effect of Trichoderma mushroom population density and soil moisture on the some traits in *O. basilicum* plant

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares						
		عملکرد وزن خشک ریشه Root dry weight yield	عملکرد وزن تر ریشه Root fresh weight yield	عملکرد وزن خشک بوته Plant dry weight yield	عملکرد وزن تر بوته Plant fresh weight yield	طول ریشه Root length	تعداد برگ Leaf number	ارتفاع بوته Plant height
بلوک Block	2	0.21^{ns}	115.51^{ns}	5.49^{ns}	6658.46^{ns}	0.58^{ns}	3.11^{ns}	58.52^{ns}
تریکودرما Trichoderma (T)	2	2.14^{ns}	125.48^{ns}	63.27^{ns}	40302.60*	1.33^{ns}	3.44^{ns}	342.19**
رطوبت خاک Soil moisture (S)	3	1.62^{ns}	67.38^{ns}	103^{ns}	11825.07^{ns}	4.88^{ns}	16.74^{ns}	286.91**
T×S	6	1.11^{ns}	95.7^{ns}	17.15^{ns}	6685^{ns}	0.88^{ns}	2.4^{ns}	59.97^{ns}
خطا Error	22	0.95	59.39	46.74	7831.09	2.09	5.77	45.86
ضریب تغییرات C.V (%)	-	16.1	17.49	18.84	16.46	14.01	17.87	15.77

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار

ns, ** and *: non-significant, and significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively.

ادامه جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تراکم جمعیت قارچ تریکودرما و رطوبت خاک بر برخی صفات گیاه ریحان

Table 1 continued– ANOVA for the effect of Trichoderma mushroom population density and soil moisture on the some traits in *O. basilicum* plant

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات (Mean squares)						
		کاروتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total chlorophyll	کلروفیلb Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	عملکرد اسانس Essential oil yield	محتوای اسانس Essential oil content	درصد کلونیزاسیون Colonization percentage
بلوک Block	2	0.11^{ns}	0.37^{ns}	0.47^{ns}	0.69^{ns}	0.001^{ns}	0.002^{ns}	10.85^{ns}
تریکودرما Trichoderma**(T)**	2	1.54**	57.14**	4.64**	29.48**	0.013*	0.04**	12.05^{ns}
رطوبت خاک Soil moisture (S)	3	1.27**	210.16**	30.41**	80.87**	0.04**	0.42**	9.09^{ns}
T×S	6	0.86**	6.15**	1.15**	2.37**	0.001^{ns}	0.0008^{ns}	2.65^{ns}
خطا(Error)	22	0.07	0.76	0.21	0.58	0.003	0.001	11.77
ضریب تغییرات C.V (%)	-	12.5	4.8	6.99	6.64	17.06	6.01	6.98

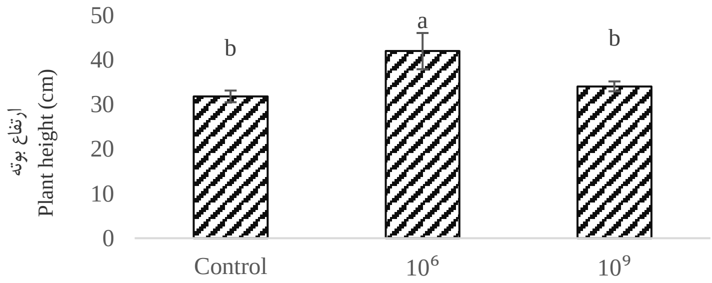
**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار

ns, ** and *: non-significant, and significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively.

اثرات تنش کمبود آب و قارچ تریکودرما

نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که تیمارهای قارچ تریکودرما، درمقایسه با تیمار شاهد باعث افزایش ارتفاع بوته شدند. تأثیر تریکودرما با تراکم جمعیت ۱۰^۶ (اسپور در هر میلی‌لیتر) بر ارتفاع بوته (۴۲ سانتی‌متر) بیشتر از تراکم جمعیت ۱۰^۹ (اسپور در هر میلی لیتر) بود که با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۱). به‌نظر می‌رسد با افزایش تراکم جمعیت به ۱۰^۹ ارتفاع بوته کاهش می‌یابد و تأثیری بر ارتفاع بوته نسبت به شاهد ندارد. ممکن است اثر مثبت کودهای زیستی مثل تریکودرما بر ارتفاع گیاه، به‌دلیل اثر این قارچها

بر رشد گیاه و یا به‌عبارت بهتر تحریک رشد گیاه باشد و نیز با توجه به اینکه رشد به میزان زیادی به‌مقدار رطوبت در دسترس گیاه وابسته است. بنابراین به‌نظر می‌رسد که این کودها با افزایش رشد ریشه و قابلیت جذب آب توسط گیاه، موجب افزایش رشد و درنتیجه ارتفاع بوته‌ها شده‌اند (Margaret *et al.*, 1994). شالان (Shaalan, 2005) گزارش کردند که تلقیح بذر سیاهدانه (*Borago officinalis*) باعث بهبود خصوصیات رشدی گیاه نظیر ارتفاع گیاه شده است که علت اصلی این امر، افزایش جذب مواد غذایی توسط گیاه بوده است.



شکل ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ *T. harzianum* بر ارتفاع بوته ریحان (*O. basilicum*)

Figure 1- The effect of different concentrations of *T. harzianum* mushroom on *O. basilicum* plant height (DMRT, *p≤0.05*)

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error.

مقایسه میانگین حاصل از سطوح مختلف رطوبت خاک بر ارتفاع بوته نشان داد که در تنش شدید کم‌آبی میزان ارتفاع بوته گیاهان ریحان کاهش یافت. بیشترین و کمترین میزان ارتفاع گیاه به‌ترتیب به تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) (۱۵/۱۱ سانتی‌متر) و تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای گیاهان (۱۱/۷۷ سانتی‌متر) تعلق دارد (شکل ۲). یکی از اولین نشانه‌های کمبود آب، کاهش تورژسانس و درنتیجه کاهش رشد و توسعه‌ی سلول به‌خصوص در ساقه و برگ‌هاست. رشد سلول حساس‌ترین فرایندی است که به‌وسیله تنش آبی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. با کاهش رشد سلول، اندازه اندام محدود می‌شود و به‌همین دلیل است که اولین اثر محسوس کم‌آبی بر روی گیاهان را می‌توان از روی اندازه ارتفاع گیاه تشخیص داد (Hsiao, 1973). تنش کم‌آبی احتمالاً سبب افزایش رقابت برای جذب آب بین بخش هوایی و زمینی در بوته می‌شود و در این رقابت ریحان سهم بیشتری از مواد فتوسنتزی را به ریشه اختصاص می‌دهد و درنتیجه مواد فتوسنتزی کمتری به بخش هوایی رسیده که این امر باعث کاهش ارتفاع بوته شده است (Hsiao, 1973). نتایج آزمایشی نشان داد که تحت شرایط تنش کم آبی ارتفاع زیره (*Cuminum cyminum* L.) کاهش یافت (Seghatoleslami, 2013). در بررسی که بر روی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*) انجام شد، مشاهده شد ارتفاع گیاه در شرایط تنش کم‌آبی به‌شدت کاهش یافت (Shubhra *et al.*, 2004).

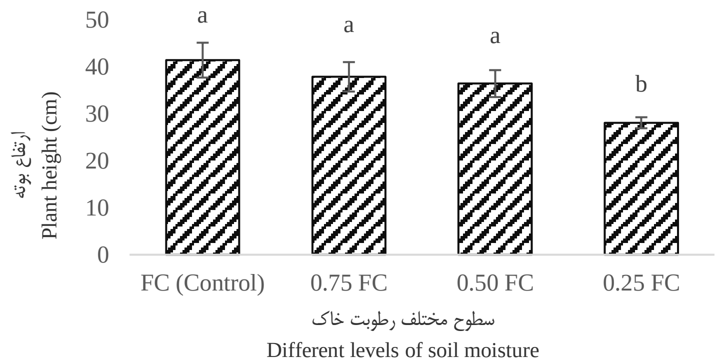
مقایسه میانگین حاصل از تأثیر قارچ تریکودرما بر روی عملکرد وزن تر بوته در مترمربع نشان داد که بیشترین و کمترین میزان عملکرد به‌ترتیب به تیمار تریکودرما با تراکم جمعیت ۱۰۶ (اسپور در هر میلی لیتر) (۲۱۳/۲ گرم) و تیمار شاهد (۱۱۰/۵۶ گرم) تعلق داشت (شکل ۳). به‌نظر می‌رسد افزایش تراکم جمعیت ۱۰۹ تأثیری در عملکرد وزن تر بوته در متر مربع نداشته و میزان عملکرد وزن تر بوته در این تیمار با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری ندارند. در اصطلاح عملکرد بوته برای نشان دادن تجمع بیوماس در سیستم گیاه به‌کار گرفته می‌شود. در پژوهشی نشان داده شد که کاربرد گونه‌های تریکودرما با افزایش جذب عناصر غذایی باعث افزایش عملکرد گیاه گل مریم (*Polianthes tuberosa*) می‌شود و همچنین دلیل بهبود عملکرد، افزایش سطح ریشه بیان شد، به‌گونه‌ای‌که موجب سطح تماس بیشتر ریشه با خاک شده و جذب عناصر قابل دسترس گیاه بیشتر می‌شود (Mazhabi *et al.*, 2011).

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی

مقایسه میانگین اثر متقابل رطوبت خاک در تریکودرما نشان داد که با افزایش تنش کمبود آب، میزان کلروفیل a در گیاهان ریحان تلقیح شده و تلقیح نشده با قارچ تریکودرما کاهش یافت. در تمام سطوح رطوبت خاک میزان کلروفیل a در گیاهان تلقیح شده با قارچ تریکودرما بیشتر از گیاهان تلقیح نشده بود. همانطور که در شکل ۴ ملاحظه می شود بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به‌ترتیب به تیمار شاهد گیاهان تلقیح شده با تراکم جمعیت ۱۰۶ (اسپور در هر میلی‌لیتر) (۱۶/۸۵

میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در گیاهان تلقیح نشده (۶/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) تعلق داشت.

مقایسه میانگین حاصل از برهمکنش رطوبت خاک در قارچ تریکودرما نشان داد که با افزایش تنش کمبود آب میزان کلروفیل b در گیاهان ریحان تلقیح شده و تلقیح نشده با قارچ تریکودرما کاهش یافت. در تمام سطوح رطوبت خاک میزان کلروفیل b در گیاهان تلقیح شده بیشتر از گیاهان تلقیح نشده بود. همانطور که در شکل ۵ ملاحظه می‌شود بیشترین و کمترین میزان کلروفیل b به‌ترتیب به تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) در گیاهان تلقیح شده با قارچ تریکودرما در تراکم جمعیت ۱۰^۶ (اسپور در هر میلی‌لیتر) (۹/۹۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و در گیاهان تلقیح نشده (۴/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) تعلق دارد.

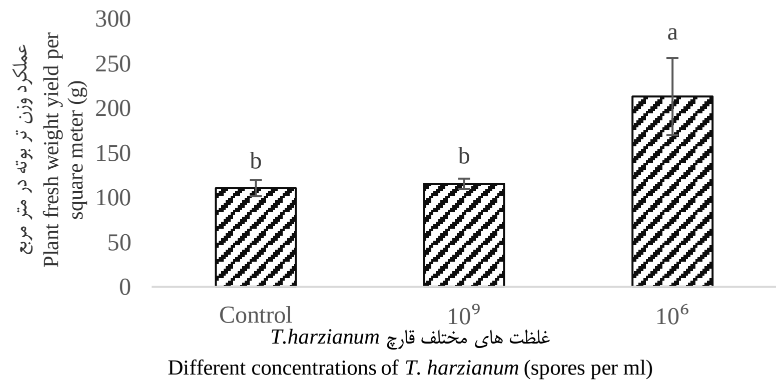


شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف رطوبت خاک بر ارتفاع بوته ریحان (*O. basilicum*)

Figure 2- The effect of different levels of soil moisture on *O. basilicum* plant height (DMRT, $p\leq 0.05$)

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error.

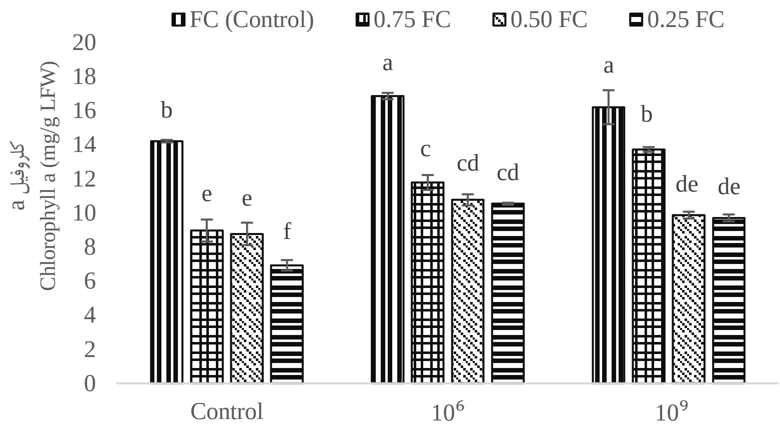


شکل ۳- تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ *T. harzianum* بر عملکرد وزن تر بوته در متر مربع در ریحان (*O. basilicum*)

Figure 3- The effect of different concentrations of *T. harzianum* fungus on the yield of plant fresh weight per square meter in *O. basilicum* (DMRT, $p\leq 0.05$)

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error.

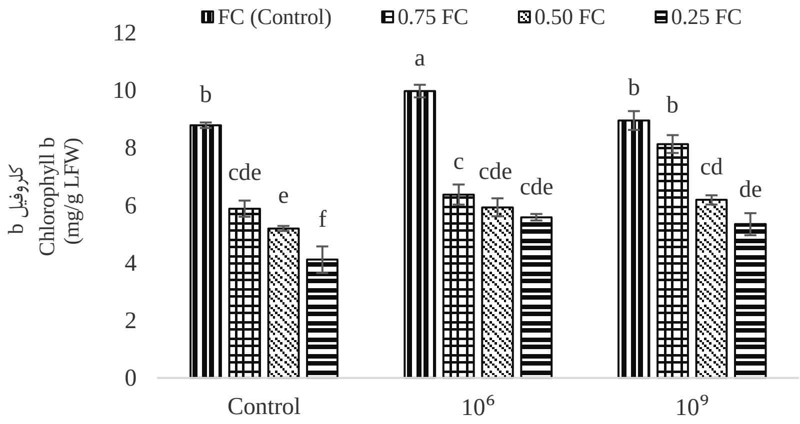


شکل ٤- تأثیر برهمکنش تراکم جمعیت *T. harzianum* ×سطوح مختلف رطوبت خاک بر کلروفیل a ریحان (*O. basilicum*)

Figure 4- The interaction effect of *T. harzianum* population density ×different soil moisture levels on *O. basilicum* chlorophyll a (DMRT, $p≤0.05$)

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error.



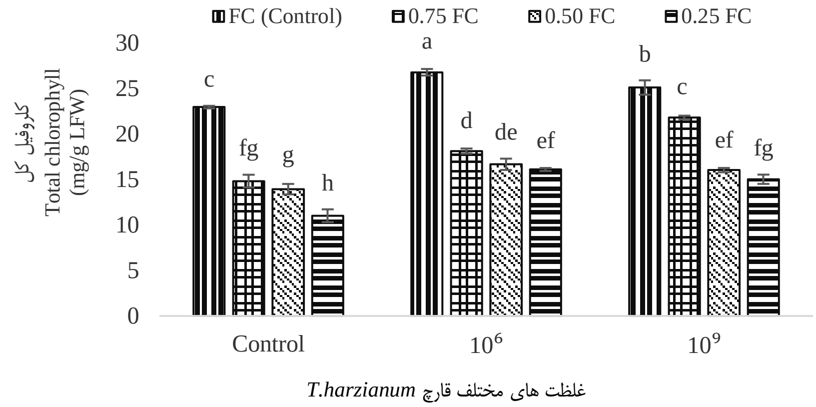
شکل ٥- تأثیر برهمکنش تراکم جمعیت *T. harzianum* ×سطوح مختلف رطوبت خاک بر کلروفیل b ریحان (*O. basilicum*)

Figure 5- The interaction effect of *T. harzianum* population density ×different soil moisture levels on *O. basilicum* chlorophyll b (DMRT, $p≤0.05$)

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error.

مقایسه میانگین اثر متقابل رطوبت خاک در قارچ تریکودرما نشان داد که با افزایش تنش کمبود آب میزان کلروفیل کل گیاهان ریحان تلقیح شده و تلقیح نشده با قارچ تریکودرما کاهش یافت. در تمام سطوح رطوبت خاک میزان کلروفیل کل در گیاهان تلقیح شده بیشتر از گیاهان تلقیح نشده بود. همانطورکه در شکل ۶ ملاحظه می‌شود بیشترین و کمترین میزان کلروفیل کل به‌ترتیب به تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در گیاهان تلقیح شده با قارچ تریکودرما در تراکم جمعیت $۱۰^{۶}$ (اسپور در هر میلی‌لیتر) (۲۶/۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و در گیاهان تلقیح نشده (۱۱/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) تعلق داشت.



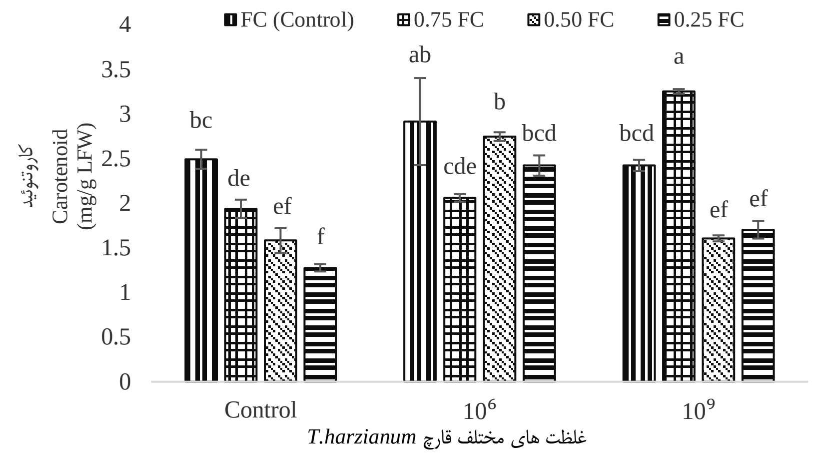
Different concentrations of *T. harzianum* (spores per ml)

شکل ٦- تأثير برهمکنش تراکم جمعيت *T. harzianum* ×سطوح مختلف رطوبت خاک بر کلروفيل کل ريحان (*O. basilicum*)

Figure 6- The effect of the interaction of *T. harzianum* population density ×different levels of soil moisture on the total chlorophyll of *O. basilicum* (DMRT, *p≤0.05*)

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error.



Different concentrations of *T. harzianum* (spores per ml)

شکل ۷- تأثير برهمکنش تراکم جمعيت *T. harzianum* ×سطوح مختلف رطوبت خاک بر کاروتنوئيد ريحان (*O. basilicum*)

Figure 7- The interaction effect of *T. harzianum* population density ×different levels of soil moisture on *O. basilicum* carotenoids (DMRT, *p≤0.05*)

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error.

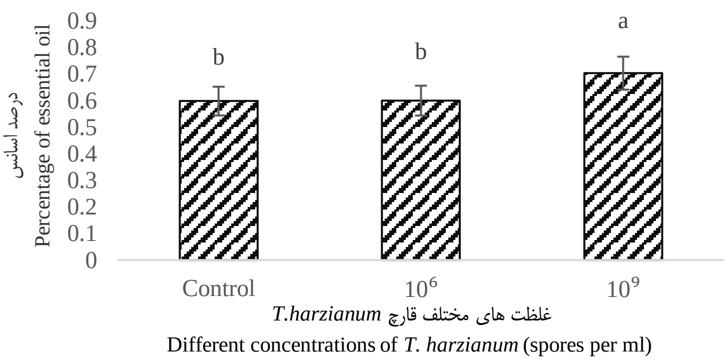
مقایسه میانگین اثر متقابل رطوبت خاک در قارچ تریکودرما نشان داد که با اعمال تنش کمبود آب میزان کاروتنوئید گیاهان ریحان تلقیح شده و تلقیح نشده با قارچ تریکودرما کاهش یافت. همانطور که در شکل ۷ ملاحظه می‌شود بیشترین و کمترین میزان کاروتنوئید به‌ترتیب به تیمار ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در گیاهان تلقیح شده با قارچ تریکودرما در تراکم جمعیت ۱۰^۹ اسپور در هر میلی‌لیتر (۳/۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و در گیاهان تلقیح نشده (۱/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) تعلق داشت.

میزان کلروفیل در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است. در گیاهانی که تحت شرایط تنش کم‌آبی قرار می‌گیرند، محتوای کلروفیل تحت تأثیر قرار می‌گیرد و در بیشتر موارد محتوای کلروفیل کاهش می‌یابد. به‌طورکلی به‌نظر می‌رسد کاهش محتوای کلروفیل در هنگام مواجه با تنش کم‌آبی در اثر تولید رادیکال های آزاد اکسیژن و متعاقب آن پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب کلروفیل بوده است. قارچ‌های تریکودرما با ترشح هورمون‌های رشد قادرند میزان سنتز کلروفیل را بالا ببرند. تریکودرما با مکانیسم‌های مختلفی چون تولید هورمون‌های گیاهی که درنتیجه آن افزایش

انشعابات ریشه و افزایش جذب آب و عناصرغذایی را در پی دارد و با تولید اسیدهای آلی و درنتیجه انحلال فسفر و دیگر عناصرغذایی، تولید سیدروفور و افزایش جذب آهن موجب افزایش غلظت کلروفیل و درنتیجه افزایش فتوسنتز و محتوای کربوهیدرات‌ها می‌شوند (Jaleel *et al.*, 2007). یانگ و همکاران (Yang *et al.*, 2014) گزارش کردند که کاهش غلظت کلروفیل، قدرت رشد و مقاومت به تنش را در گیاه *Sclerotinia sclerotiorum* Lib. کاهش می‌دهد. در پژوهش حاضر میزان کلروفیل و رنگیزه‌های گیاهی طی تنش کاهش یافت، درحالی‌که تیمار تریکودرما سبب افزایش میزان این رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه گردید. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که تلقیح *T. viride* توانست محتوای کلروفیل را در کلم بروکلی (*Brassica oleracea* var. *italica*) به‌طور قابل توجهی افزایش دهد. همچنین نتایج بیانگر این مطلب بود که افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی نتیجه افزایش تبادل گازی به‌علت کاهش مقاومت روزنه‌ای و افزایش تعرق می‌باشد (Hermosa *et al.*, 2012). طبق گزارش‌های موجود، قارچ تریکودرما خطرهای ناشی از تنش‌ها را کاهش می‌دهد و باعث افزایش تحمل گیاهان باغی و زراعی در برابر تنش‌های زنده و غیر زنده می‌شود (Harman *et al.*, 2004).

محتوای اسانس

مقایسه میانگین حاصل از اثر قارچ تریکودرما بر محتوای اسانس نشان داد که بیشترین محتوای اسانس (۰/۷ درصد) به گیاهان تلقیح شده با قارچ تریکودرما در تراکم جمعیت ۱۰^۹ (اسپور در هر میلی‌لیتر) تعلق داشت که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۸). قارچ تریکودرما در محیط ریشه گیاه توانایی ساخت و ترشح مقداری مواد بیولوژیکی مانند ویتامین B، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتنیک، بیوتین و با تولید مقادیر قابل ملاحظه‌ای هورمون‌های تحریک‌کننده رشد به‌ویژه اکسین، سیتوکینین و جیبرلین باعث افزایش رشد و نمو عملکرد زراعی و رشد ریشه شده و از این طریق تأثیر مثبت بر محتوای اسانس گذاشته است (Kapoor *et al.*, 2007).



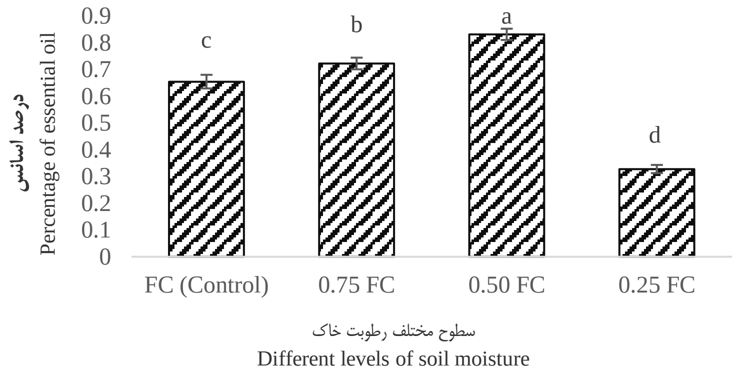
شکل ۸- تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ *T. harzianum* بر درصد اسانس ریحان (*O. basilicum*)

Figure 8- The effect of different concentrations of *T. harzianum* mushroom on the percentage of *O. basilicum* essential oil (DMRT, $p \leq 0.05$)

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error.

با توجه به مقایسه میانگین سطوح مختلف رطوبت خاک بر محتوای اسانس مشخص شد که بیشترین محتوای اسانس (۰/۸۳ درصد) مربوط به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای (تنش متوسط) بود که با سایر تیمارهای سطوح مختلف رطوبت خاک اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۹). طبق نتایج تحقیق حاضر تنش ملایم (۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) کم‌آبی سبب افزایش مقدار اسانس گیاه ریحان شده است. علت کاهش محتوای اسانس در تیمار تنش شدید را می‌توان چنین توجیه کرد که بیشتر بوته‌های تحت تیمار تنش شدید وارد گلدهی شده‌اند. با توجه به اینکه گیاه ریحان در مرحله گلدهی کامل دارای بیشترین اسانس است. کم بودن تعداد بوته‌های به گل رفته و عدم رسیدن بوته‌ها به مرحله گلدهی کامل می‌تواند توضیحی برای پایین بودن محتوای اسانس در بوته‌های تحت تیمار شدید باشد. احتمالاً اثر منفی تنش شدید کم‌آبی به‌دلیل نوع ساختار برگ و محل ذخیره اسانس در برگ‌های گیاه ریحان می‌باشد، زیرا در این گیاه، اسانس در نزدیکی سطح برگ‌ها ذخیره می‌گردد و برگ‌ها ضخامت بسیار کمی دارند. تجلیلی و همکاران (Tajalli *et al.*, 2007) در مشاهدات خود نشان داد که تنش کمبود آب تأثیر محسوسی روی محتوای اسانس گیاه *Camphorosma monspeliaca* ندارد.



شکل ۹- تأثیر سطوح مختلف رطوبت خاک بر درصد اسانس ریحان (*O. basilicum*)

Figure 9- The effect of different levels of soil moisture on the percentage of *O. basilicum* essential oil (DMRT, *p≤0.05*)

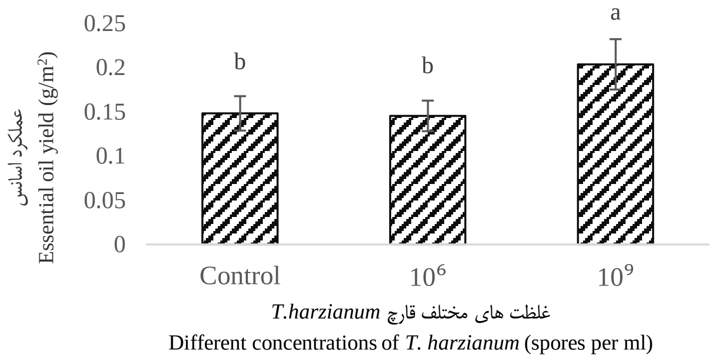
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error.

عملکرد اسانس

مقایسه میانگین حاصل از اثر قارچ تریکودرما بر عملکرد اسانس نشان داد که بیشترین میزان عملکرد اسانس با ۰/۲۰۳ گرم در متر مربع به گیاهان تلقیح شده با قارچ تریکودرما در تراکم جمعیت ۱۰⁹ (اسپور در هر میلی‌لیتر) اختصاص داشت که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۱۰). نتایج تحقیقات کریم‌زاده و همکاران (Karimzadeh *et al.*, 2018) در گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) نیز نشانگر افزایش معنی‌دار عملکرد اسانس درصورت استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید همزیست با گیاه میزبان می‌باشد. احتمالاً بهبود عملکرد اسانس در این گیاه ناشی از افزایش تولید ماده خشک و درصد اسانس حاصل از مصرف این میکروارگانیسم‌ها بود.

با توجه به مقایسه میانگین سطوح مختلف رطوبت خاک بر عملکرد اسانس مشخص شد که بیشترین عملکرد اسانس (۰/۲۱ گرم در متر مربع) مربوط به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای بود که با تیمار ۲۵ درصد اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۱۱). بنابراین، در این پژوهش تنش متوسط کم‌آبی موجب افزایش عملکرد اسانس و تنش شدید موجب کاهش معنی‌داری آن شده است. اثرات نامناسب تنش شدید کم‌آبی در کاهش عملکرد اسانس توسط امیدبیگی و همکاران (Omidbaigi *et al.*, 2003) در ریحان گزارش شده است. بنابراین نتایج حاصل از این تحقیق، گزارش‌های محققین ذکر شده را مورد تأیید قرار می‌دهد.

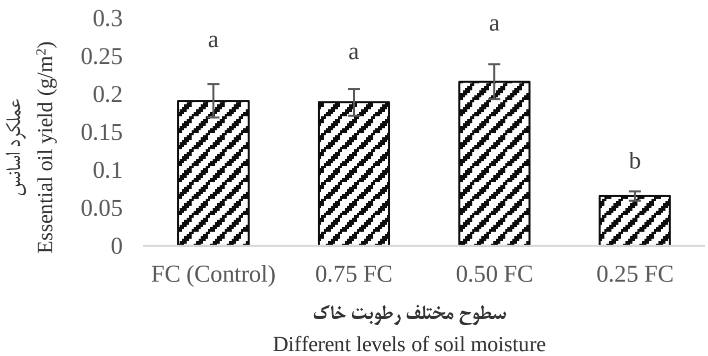


شکل ۱۰- تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ *T. harzianum* بر عملکرد اسانس ریحان (*O. basilicum*)

Figure 10- The effect of different concentrations of *T. harzianum* mushroom on the yeild of *O. basilicum* essential oil (DMRT, *p≤0.05*)

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error.



شکل ۱۱- تأثیر سطوح مختلف رطوبت خاک بر عملکرد اسانس ریحان (*O. basilicum*)

Figure 11- The effect of different levels of soil moisture on the yeild of *O. basilicum* essential oil (DMRT, $p≤0.05$)

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error.

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر نشان داد که با اعمال تنش کم‌آبی، صفاتی مثل طول ریشه و بوته و تعداد برگ کاهش یافت، ولی در تیمارهای تلقیح شده با قارچ‌های تریکودرما شاخص‌های رشد بیان شده، طول و وزن بیشتری نسبت به تیمارهای بدون تلقیح داشتند. نتایج نشان داد که با اعمال تنش کم‌آبی، غلظت مقادیر کلروفیل کاهش یافت، ولی غلظت آن‌ها در تیمارهای تلقیح شده با تریکودرما بیشتر از تیمارهای بدون تلقیح بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان بیان کرد که تلقیح گیاه ریحان با قارچ تریکودرما موجب افزایش درصد و عملکرد اسانس در هر دو شرایط تنش آبی و شرایط بدون تنش گردید و با توجه به اینکه در کشت گیاهان دارویی هدف افزایش ماده مؤثره در این گیاهان می‌باشد. لذا برای رسیدن به این هدف می‌توان از قارچ تریکودرما بهره برد.

References

1. Ahmad, M., Zaffer, G., Razvi, S.M., Dar, Z.A., Mir, S.D., Bukhari, S.A., & Habib, M. (2014). Resilience of cereal crops to abiotic stress: a review. *African Journal of Biotechnology*, *13*, 121-130. https://doi.org/10.5897/AJB2013.13532
2. Amani, M., Sabzi-Nojadeh, M., Alizadeh-Salteh, S., & Younessi Hamzekhanlu, M. (2023). Study of the effect of water stress and different species of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on economic yield, essential oil yield and photosynthetic pigments of basil (*Ocimum basilicum* L.) .*Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*. https://doi.org/10.22034/SAPS.2022.50909.2854
3. Amini, R., Ebrahimi, A., & Nasab, A.D.M. (2020). Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) essential oil content and composition as affected by sustainable weed management treatments. *Industrial Crops and Products*, *150*, 112416. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112416
4. Aslani, Z., Hassani, A., Rasouli Sadeghiani, M.H., Sefidkan, F., & Brin, M. (2011). The effect of two species of Arbuscular mycorrhiza fungi *(Glumus mosseae*) and (*G. intraradices*) on growth, chlorophyll content and phosphorus uptake in basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress. *Scientific-Research of Iranian Medicinal and Aromatic Plants*, *27*, 471-486.
5. Ganji Moghadam, E., Khodaei, S., & Zamanipour, M. (2023). Effect of three species of arbuscular mycorrhizal fungi on some physiological and growth characteristics of peach seedlings under drought stress conditions. *Journal of Horticultural Science*. (In Persian with English abstract) https://doi.org/10.22067/jhs.2023.79317.1202
6. Haq, T.U., Ali, A., Nadeem, S., Maqbool, M.M., & Ibrahim, M. (2014). Performance of canola cultivars under drought stress induced by withholding irrigation at different growth stages. *Soil Environment*, *33*, 43-50.
7. Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). Trichoderma species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, *2*, 43-56. https://doi.org/10.1038/nrmicro797
8. Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., & Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of Trichoderma and of its genes. *Microbiology*, *158*, 17-25. https://doi.org/10.1099/mic.0.052274-0
9. Hsiao, T.C. (1973). Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, *24*, 519-570.
10. Jaleel, C.A., Gopi, B., Sankar, P., Manivannan, A., Kishorekumar, R. S., & Panneers, L. (2007). Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and proline metabolism in *Catharanthus roseus* seedling under salt stress. *South African Journal of Botany*, *73*, 190-195. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2006.11.001

11. Kapoor, R., Chaudhary, V., & Bhatnagar, A.K. (2007). Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. *Mycorrhiza*, *17*, 581-587. https://doi.org/10.1007/s00572-007-0135-4
12. Karimzadeh Asl, K., Ghorbanpour, M., Marefatzadeh Khameneh, M., & Hatami, M. (2018). Influence of drought stress, biofertilizers and zeolite on morphological traits and essential oil constituents in *Dracocephalum moldavica* L. *Journal of Medicinal Plants*, *17*, 91-112. (In Persian with English abstract).
13. Khakdan, F., & Javanmard, A.S. (2022). The impact of drought stress on antioxidant activities of basil (*Ocimum basilicum*) cultivars extracts. *Nova Biologica Reperta*, *9*, 200-212.
14. Khalil, S.E., & El-Noemani, A.S.A. (2015). Effect of bio-fertilizers on growth, yield, water relations, photosynthetic pigments and carbohydrates contents of *Origanum vulgare* L. plants grown under water stress conditions. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, *9*, 60-73.
15. Margaret, A.O., James, M., Lynch, N., & John, M.W. (1994). Potential of *Trichoderma* spp. As consistent plant growth stimulators. *Biological Fertilizers and Soils*, *17*, 85-90. https://doi.org/10.1007/BF00337738
16. Mazhabi, M., Nemati, H., Rouhani, H., Tehranifar, A., Moghadam, E.M., Kaveh, H., & Rezaee, A. (2011). The effect of *Trichoderma* on polianthes qualitative and quantitative properties. *Journal of Animal and Plant Sciences*, *21*, 617-621. (In Persian with English abstract)
17. Mohsenzadeh, F., Zafari, D., & Nouri Safa, B. (2016). Instability of some species of *Trichoderma* fungi to oil pollution. *Journal of Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, *29*, 321-330. (In Persian with English abstract)
18. Nabizadeh, E., Haghshenas, M., Dolatmand, N., & Ahmadi, K. (2023). The effect of Mycorrhizal Fungus (*Piriformospora indica*) on the morphological, physiological and biochemical traits of the medicinal plant Stevia (*Stevia rebaudiana*) under drought stress. *Journal of Horticultural Science*, *37*(2), *37*(2), 453-465. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.75337.1173
19. Omidbaigi, R., Hassani, A., & Sefidkon, F. (2003). Essential oil content and composition of sweet basil (*Ocimum basilicum*) at different irrigation regimes. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 6: 104-108. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.1080/0972-060X.2003.10643335
20. Porra, RJ. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls and b. *Photosynthesis Research*, *73*, 149-156. https://doi.org/10.1023/A:1020470224740
21. Rahimi Y., Talei A., & Ranjbar M. (2019). The effect of drought stress on biochemical changes of peppermint, *Iranian Journal of Crop Science*, *50*(2), 59-75. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijfcs.2018.239868.654367
22. Rajaeian, S., Ehsanpour, A.A., & Toghyani, M.A. (2015). Changes in phenolic compound, TAL, PAL activity of *Nicotiana rustica* triggered by ethanolamine pretreatment under in vitro salt stress condition. *Iranian Journal of Plant Biology*, *7*, 1-12. https://doi.org/20.1001.1.20088264.1394.7.26.2.4
23. Seghatoleslami, M. (2013). Effect of water stress, bio-fertilizer and manureon seed and essential oil yield and some morphological traits of cumin. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, *19*, 1268-1274. (In Persian with English abstract)
24. Shaalan, M.N. (2005). Effect of compost and different sources of biofertilizers, on borage plants (*Borago officinalis*). *Egypt Journal of Agriculture Research*, *83*, 271-281. https://doi.org/10.21608/ejar.2005.242762
25. Sharma, KD., & Kuhad, MS. (2006). Influence of potassium level and soil moisture regime on biochemical metabolites of *Brassica* Species. *Brassica Journal*, *8*, 71-74.
26. Shubhra, K., Dayal, J., Goswami, C.L., & Munjal, R. (2004). Effects of waterdeficit on oil of *Calendula* aerial parts. *Biologia Plantarum*, *48*, 445-448.
27. Shukla, N., Awasthi, R.P., Rawat, L., & Kumar, J. (2012). Biochemical and physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, *54*, 78-88.
28. Tajali, A.A., Amin, G., Chaichi, M.R., & Zahedi, G. (2007). Habitat influence on essential oil of *Camphorosma monspeliaca* L. in Iran. *Asian Journal of Plant Sciences*, *6*, 1297-1299.
29. Yang, C., Zhang, Z., Gao, H., Liu, M., & Fan, X. (2014). Mechanisms by which the infection of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Baryaffects the photosynthetic performance in tobacco leaves. *BMC Plant Biology*, *14*, 1-11. https://doi.org/10.1186/s12870-014-0240-4